

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. September 2004 (23.09.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/081217 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/82,
C07K 14/415, C12N 15/29, A01H 5/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/002436

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. März 2004 (10.03.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
103 11 118.2 12. März 2003 (12.03.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BASF PLANT SCIENCE GMBH [DE/DE]; 67056
Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FRANK, Markus
[DE/DE]; Rheindammstrasse 30, 68163 Mannheim (DE).
KOGEL, Karl-Heinz [DE/DE]; Berggartenstrasse 7,
35457 Lollar (DE). HÜCKELHOVEN, Ralph [DE/DE];
Glaubrechtstr. 12, 35392 Giessen (DE).

(74) Anwalt: BIEBERBACH, Andreas; BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des Internationalen
Recherchenberichts: 23. Dezember 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR INCREASING RESISTANCE AGAINST STRESS FACTORS IN PLANTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR ERHÖHUNG DER RESISTENZ GEGEN STRESSFAKTOREN IN PFLANZEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing or increasing resistance against at least one biotic or abiotic stress factor in plants, preferably against plant pathogens, by increasing expression of at least one Bax inhibitor 1 (BI1) protein in at least one plant tissue, under the proviso that expression in leaf epidermis remains substantially unmodified. The invention relates further to recombinant expression cassettes and vectors that comprise a nucleic acid sequence coding for the BI protein under the control of a tissue-specific promoter, said promoter having substantially no activity in leaf epidermis. The invention further relates to recombinant plants that are transformed with said expression cassettes or vectors, to cultures, parts or recombinant propagation material derived thereof, and to the use of the same for producing food, feeding stuff, seeds, pharmaceuticals or fine chemicals.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Stressfaktor in Pflanzen, bevorzugt gegen pflanzliche Pathogene, durch Erhöhung der Expression mindestens eines Bax-Inhibitor 1 (BI1) Proteins in mindestens einem pflanzlichen Gewebe mit der Massgabe, dass die Expression in der Blattepidermis im wesentlichen unverändert bleibt. Die Erfindung betrifft ferner rekombinante Expressionskassetten und Vektoren, die eine für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz unter Kontrolle eines gewebespezifischen Promotors umfassen, wobei der Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist. Die Erfindung betrifft ferner mit besagten Expressionskassetten oder Vektoren transformierte rekombinante Pflanzen, davon abgeleitete Kulturen, Teile oder rekombinantes Vermehrungsgut, sowie die Verwendung derselben zur Herstellung von Nahrungs-, Futtermitteln, Saatgut, Pharmazeutika oder Feinchemikalien.

WO 2004/081217 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/002436

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/82 C07K14/415 C12N15/29 A01H5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/101079 A (PIONEER HI BRED INT) 19 December 2002 (2002-12-19) the whole document	1-11
A	US 2003/009785 A1 (REED JOHN C) 9 January 2003 (2003-01-09) paragraphs [0014] - [0019]	1-11
A	EP 0 864 650 A (DIRECTOR GENERAL OF NATIONAL I) 16 September 1998 (1998-09-16) abstract	1-11
A	WO 00/26391 A (UNIV NEBRASKA LINCOLN ;DICKMAN MARTIN B (US)) 11 May 2000 (2000-05-11) cited in the application page 4, lines 1-10	1-11
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "8" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 July 2004

Date of mailing of the international search report

29.09.04

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bilang, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/002436

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LINCOLN JAMES E ET AL: "Expression of the antiapoptotic baculovirus p35 gene in tomato blocks programmed cell death and provides broad-spectrum resistance to disease." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 99, no. 23, 12 November 2002 (2002-11-12), pages 15217-15221, XP002286824 November 12, 2002 ISSN: 0027-8424 (ISSN print) abstract	1-11
P,A	----- HUECKELHOVEN RALPH ET AL: "Overexpression of barley BAX inhibitor 1 induces breakdown of mlo-mediated penetration resistance to Blumeria graminis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 100, no. 9, 29 April 2003 (2003-04-29), pages 5555-5560, XP002286823 April 29, 2003 ISSN: 0027-8424 (ISSN print) abstract	1-11
P,A	----- CHAE H-J ET AL: "Evolutionarily conserved cytoprotection provided by Bax Inhibitor-1 homologs from animals, plants, and yeast" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 323, 24 December 2003 (2003-12-24), pages 101-113, XP004477034 ISSN: 0378-1119 the whole document -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see supplemental sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-11

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/002436

Box III

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

Invention 1: Claims 1-11

Method for generating or increasing stress resistance in plants by increasing the protein amount or function of a Bax inhibitor-1 (BI1) protein.

Invention 2: Claims 12-20 (in part)

Polypeptide- and polynucleotide sequences coding for BI1 protein with the sequence as per SEQ ID NO:12.

Inventions 3-12: Claims 12-20 (in part)

As invention 2, but for BI1 protein with one of the sequences as per SEQ ID NO:14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30, 32 or 38.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/002436

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02101079	A	19-12-2002	CA 2450669 A1 EP 1406484 A2 WO 02101079 A2 US 2003056249 A1	19-12-2002 14-04-2004 19-12-2002 20-03-2003
US 2003009785	A1	09-01-2003	NONE	
EP 0864650	A	16-09-1998	JP 3331367 B2 JP 10309142 A AU 703009 B2 AU 5832398 A CA 2231738 A1 CA 2375804 A1 CN 1436845 A CN 1195026 A ,B EP 0864650 A2 JP 2000023583 A JP 2002300822 A US 6310272 B1 US 2003005480 A1	07-10-2002 24-11-1998 11-03-1999 17-09-1998 11-09-1998 11-09-1998 20-08-2003 07-10-1998 16-09-1998 25-01-2000 15-10-2002 30-10-2001 02-01-2003
WO 0026391	A	11-05-2000	AU 1241100 A CA 2348705 A1 CN 1413257 T EP 1161546 A2 JP 2002538769 T WO 0026391 A2	22-05-2000 11-05-2000 23-04-2003 12-12-2001 19-11-2002 11-05-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/002436

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N15/82 C07K14/415 C12N15/29 A01H5/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 02/101079 A (PIONEER HI BRED INT) 19. Dezember 2002 (2002-12-19) das ganze Dokument	1-11
A	US 2003/009785 A1 (REED JOHN C) 9. Januar 2003 (2003-01-09) Absätze '0014! - '0019!	1-11
A	EP 0 864 650 A (DIRECTOR GENERAL OF NATIONAL I) 16. September 1998 (1998-09-16) Zusammenfassung	1-11
A	WO 00/26391 A (UNIV NEBRASKA LINCOLN ;DICKMAN MARTIN B (US)) 11. Mai 2000 (2000-05-11) in der Anmeldung erwähnt Seite 4, Zeilen 1-10	1-11
-/-		



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

1. Juli 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

29.09.04

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bilang, J

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	LINCOLN JAMES E ET AL: "Expression of the antiapoptotic baculovirus p35 gene in tomato blocks programmed cell death and provides broad-spectrum resistance to disease." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 99, Nr. 23, 12. November 2002 (2002-11-12), Seiten 15217-15221, XP002286824 November 12, 2002 ISSN: 0027-8424 (ISSN print) Zusammenfassung	1-11
P,A	HUECKELHOVEN RALPH ET AL: "Overexpression of barley BAX inhibitor 1 induces breakdown of mlo-mediated penetration resistance to Blumeria graminis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 100, Nr. 9, 29. April 2003 (2003-04-29), Seiten 5555-5560, XP002286823 April 29, 2003 ISSN: 0027-8424 (ISSN print) Zusammenfassung	1-11
P,A	CHAE H-J ET AL: "Evolutionarily conserved cytoprotection provided by Bax Inhibitor-1 homologs from animals, plants, and yeast" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 323, 24. Dezember 2003 (2003-12-24), Seiten 101-113, XP004477034 ISSN: 0378-1119 das ganze Dokument	1-11

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/002436

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich _____
2. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich _____
3. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1-11

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

Erfindung 1: Ansprüche 1-11

Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Stressresistenz in Pflanzen durch Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion eines Bax Inhibitor-1 (BI1) Proteins

Erfindung 2: Ansprüche 12-20 (Teilweise)

Polypeptid- und Polynukleotidsequenzen kodierend für BI1 Protein mit der Sequenz gemäss SEQ ID NO: 12

Erfindung 3-12: Ansprüche 12-20 (Teilweise)

wie Erfindung 2, jedoch BI1 Protein mit einer der Sequenzen gemäss SEQ ID NO: 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30, 32, oder 38.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/002436

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 02101079	A	19-12-2002	CA	2450669 A1	19-12-2002
			EP	1406484 A2	14-04-2004
			WO	02101079 A2	19-12-2002
			US	2003056249 A1	20-03-2003
<hr/>					
US 2003009785	A1	09-01-2003	KEINE		
<hr/>					
EP 0864650	A	16-09-1998	JP	3331367 B2	07-10-2002
			JP	10309142 A	24-11-1998
			AU	703009 B2	11-03-1999
			AU	5832398 A	17-09-1998
			CA	2231738 A1	11-09-1998
			CA	2375804 A1	11-09-1998
			CN	1436845 A	20-08-2003
			CN	1195026 A ,B	07-10-1998
			EP	0864650 A2	16-09-1998
			JP	2000023583 A	25-01-2000
			JP	2002300822 A	15-10-2002
			US	6310272 B1	30-10-2001
			US	2003005480 A1	02-01-2003
<hr/>					
WO 0026391	A	11-05-2000	AU	1241100 A	22-05-2000
			CA	2348705 A1	11-05-2000
			CN	1413257 T	23-04-2003
			EP	1161546 A2	12-12-2001
			JP	2002538769 T	19-11-2002
			WO	0026391 A2	11-05-2000
<hr/>					